

Imagerie de la néoangiogenèse en médecine nucléaire

Neoangiogenesis imaging in nuclear medicine

E. Deshayes^a, V. Dunet^b, C. Rüegg^c, J.O. Prior^{a,*}

^aDépartement de médecine nucléaire, centre hospitalier universitaire Vaudois, 46, rue du Bugnon, 1011 Lausanne, Suisse

^bDépartement de radiologie, centre hospitalier universitaire Vaudois, Lausanne, Suisse

^cChaire de pathologie, département de médecine, faculté des sciences, université de Fribourg, Fribourg, Suisse

Résumé

La prolifération de vaisseaux néoformés – ou néoangiogenèse – constitue l'un des mécanismes physiopathologiques essentiels dans le développement des processus néoplasiques. La néoangiogenèse contribue à la croissance tumorale, à la diffusion des cellules néoplasiques ainsi qu'à déterminer la réponse ou la résistance aux traitements anticancéreux. Elle implique différentes voies de signalisation cellulaire parmi lesquelles la voie du *vascularendothelial growth factor* (VEGF) et celle des intégrines qui constituent une cible préférentielle pour le développement de nouvelles thérapies spécifiques. Les modifications de la microvascularisation induites par ces traitements surviennent de façon précoce comparativement aux modifications morphologiques des tumeurs ciblées détectables par des approches d'imagerie conventionnelle. La mise au point d'outils d'imagerie moléculaire permettant une évaluation de ces cibles avant instauration du traitement, une détection précoce de la réponse ou d'une récurrence au cours du suivi thérapeutique est ainsi essentielle, justifiant le développement de traceurs d'imagerie moléculaire caractérisant les phénomènes pathologiques impliqués. Cette revue se propose de revenir sur les principales voies de signalisation de la néoangiogenèse tumorale, sur les différents radiotraceurs développés jusqu'à présent au stade préclinique et clinique, ainsi que sur leurs potentiels d'utilisation chez l'humain dans le but d'améliorer la prise en charge des patients susceptibles de bénéficier des traitements antiangiogéniques.

Mots clés : Néoangiogenèse ; Cancer ; Radiopharmaceutique ; TEP ; TEMP

Abstract

The formation of new vessels, a process referred to as neoangiogenesis, is one of the key pathophysiological mechanisms in the development and progression of cancer. It contributes to tumour growth and dissemination of neoplastic cells and can determine response or resistance to anticancer therapies. It involves different signaling pathways including the vascular endothelial growth factor (VEGF) pathway and integrins, which are also preferred targets for the development of antiangiogenic therapies. Changes in the microvasculature induced by antiangiogenic treatments occur before morphological changes can be detected with conventional imaging approaches. The development of molecular tools enabling an assessment of these targets before initiating therapy, or early detection of response or recurrence during or following treatment is essential for the close monitoring of antiangiogenic treatments. These outstanding needs call for the development of specific probes enabling the characterization of the molecules and pathways involved. This review summarizes the major signaling pathway involved in promoting tumor neoangiogenesis, the different radiotracers recently developed in preclinical and clinical settings, as well as their potential use in humans in order to improve the management of patients treated with antiangiogenic treatments.

Keywords: Neoangiogenesis; Cancer; Radiotracer; PET; SPECT

* Auteur correspondant.

Adresse e-mail : john.prior@chuv.ch (J.O. Prior).

1. Introduction

Le cancer est la seconde cause de morbidité et mortalité touchant les populations des pays industrialisés et deviendra la première cause de mortalité dans les prochaines années [1]. La prolifération de vaisseaux néoformés – ou néoangiogenèse – est au centre de nombreuses pathologies et est, notamment, en cause dans le développement des processus néoplasiques. Ainsi, il a été démontré que les phénomènes d'angiogenèse pathologique participaient aussi bien à la croissance tumorale qu'à déterminer la réponse ou la résistance aux traitements anticancéreux. La néoangiogenèse tumorale implique différentes voies de signalisation, notamment la voie du *vascular endothelial growth factor* (VEGF) et celle des intégrines, qui via l'activation de tyrosines kinases (TK) favorisent la formation de néovaisseaux pathologiques tumoraux. Les thérapies ciblées antiangiogéniques sont basées sur l'inhibition de l'effet du VEGF ou de la transduction du signal. Elles induisent une réduction du nombre de microvaisseaux et un retour à la normale des capillaires restants sur un plan architectural et fonctionnel. Ces modifications de la microvascularisation surviennent de façon précoce comparativement aux modifications morphologiques qu'elles engendrent secondairement. Le développement d'outils d'imagerie permettant une évaluation des cibles avant traitement ainsi qu'une détection précoce de l'absence, respectivement de la présence de réponse ou d'une récurrence au cours du suivi thérapeutique, est donc nécessaire et passe par l'utilisation de traceurs spécifiques au phénomène pathologique en jeu.

La revue proposée vise donc à exposer les principaux radiotraceurs ciblant les voies de signalisation impliquées dans la néoangiogenèse tumorale et qui ont été développés au stade préclinique et/ou clinique pour l'évaluation initiale des néovaisseaux tumoraux et la réponse aux traitements antiangiogéniques.

2. Mécanismes et aspects moléculaires de la néoangiogenèse tumorale

La néoangiogenèse représente un mécanisme clé dans le développement tumoral. En 1971, Folkman et al. proposent que le développement tumoral requiert l'apport de nutriments et d'oxygène que ne peut fournir la vasculature du tissu sain environnant [2]. Afin de pourvoir à ses besoins, la cellule tumorale est susceptible de sécréter des facteurs de croissance proangiogéniques agissant sur les cellules endothéliales et leur environnement afin de favoriser la formation de néovaisseaux. L'activation des cellules endothéliales par ces facteurs proangiogéniques entraîne une vasodilatation et augmentation de perméabilité, leur prolifération, leur migration, l'invasion du tissu environnant par destruction de la membrane basale après activation d'enzymes de dégradation de la matrice extracellulaire, une promotion de la survie cellulaire par l'intermédiaire de signaux anti-apoptotiques. De nombreuses voies de signalisation sont ainsi impliquées dans le phénomène de néoangiogenèse. Deux d'entre elles ont néanmoins fait l'objet d'un intérêt croissant au cours du développement de l'imagerie

de la néoangiogenèse : d'une part, les facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGFs) et leurs récepteurs à activité tyrosine kinase (VEGFRs) qui constituent la principale voie d'activation des cellules endothéliales et, d'autre part, les intégrines, molécules d'adhésion jouant un rôle capital dans la migration, la survie et la prolifération des cellules endothéliales [3,4]. Nous concentrerons donc cette revue sur les différents traceurs ciblant ces voies de signalisation, à la fois au stade préclinique et au stade clinique.

2.1. VEGF/VEGFR

La famille du VEGF comprend plusieurs molécules apparentées issues de sept gènes différents, mais possédant toutes un domaine commun : VEGF-A ; VEGF-B, VEGF-C, VEGF-D, VEGF-E, VEGF-F et le facteur de croissance placentaire (PGF). Le terme VEGF est communément utilisé dans la littérature pour désigner le VEGF-A et ses différentes isoformes (en fonction du nombre d'acides aminés : 121, 145, 165, 183, 189, 206). Ces isoformes, résultant d'un épissage alternatif des ARN messagers, ont des comportements biologiques différents (solubilité, etc.) Les récepteurs au VEGF sont des glycoprotéines transmembranaires au nombre de trois : VEGFR-1, RVEGFR-2 et RVEGFR-3. Une fois activés, ces récepteurs déclenchent l'activation de la cellule endothéliale par l'intermédiaire d'une voie impliquant des tyrosines kinases intracellulaires. Les récepteurs au VEGF sont exprimés par les cellules endothéliales du tissu péri-tumoral, mais peuvent également être exprimés par les cellules tumorales elle-mêmes. Du fait de son rôle clé dans la néoangiogenèse, la voie VEGF/VEGFR est une cible de choix pour les thérapies antiangiogéniques (Fig. 1). Les cibles de ces nouveaux traitements sont soit les facteurs de croissances eux-mêmes, soit les tyrosines kinases responsables de la transduction du signal. Par exemple, le bevacizumab (Avastin[®]) est un anticorps monoclonal IgG1 humanisé ayant pour cible le VEGF-A, dont il reconnaît toutes les isoformes, et inhibe sa liaison avec ses récepteurs. Le sorafenib (Nexavar[®]) et le sunitinib (Sutent[®]) sont, par exemple, des inhibiteurs de l'activité tyrosine kinase des récepteurs au VEGF et PDGF [5]. Le ramucirumab est un anticorps humanisé ayant pour cible le VEGFR-2 et bloque la liaison du VEGF, inhibant ainsi l'angiogenèse.

2.2. Les intégrines

Les intégrines sont des glycoprotéines exprimées à la surface cellulaire ayant un rôle dans l'adhésion cellulaire (adhésion cellule-cellule, cellule-matrice extracellulaire), la migration cellulaire et la transduction transmembranaire de signaux cellulaires. Elles sont constituées de deux sous-unités transmembranaires non-covalentes, une sous-unité α et une sous-unité β . Jusqu'à présent, 18 sous-unités α et huit sous-unités β ont été identifiées, se conjuguant pour former au moins 24 récepteurs différents. Ces différentes combinaisons sont exposées sur la Fig. 2. Les intégrines exprimées sur les cellules tumorales favorisent l'extension locale et à distance du cancer

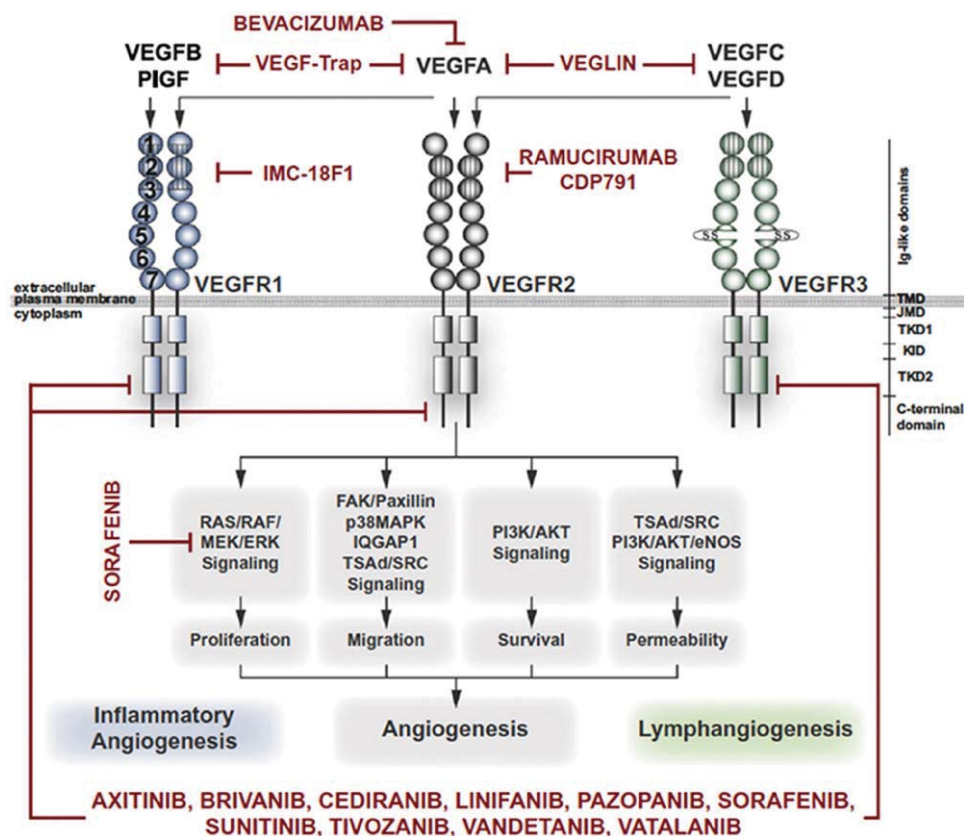


Fig. 1. Les inhibiteurs de la voie VEGF/VEGFR (en rouge) et leurs cibles. (réimprimé depuis Tugues et al., 2011 [46], avec la permission de Elsevier). VEGF signaling inhibitors and their targets (Reprinted from Tugues et al., 2011 [46], with permission from Elsevier).

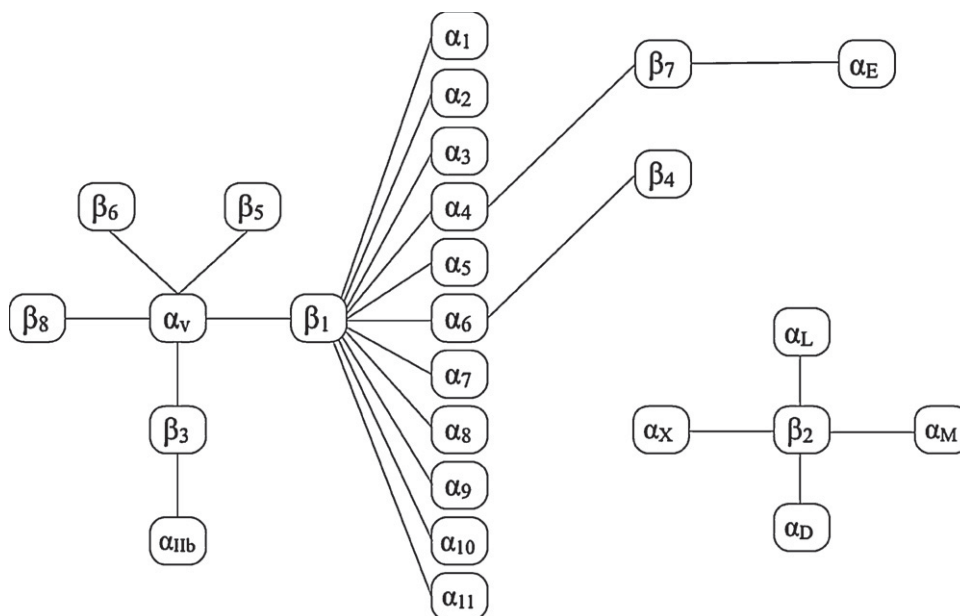


Fig. 2. Vingt-quatre types d'intégrine en fonction des sous-unités (réimprimé avec la permission de la Société de médecine nucléaire depuis Cai et Chen, 2007, figure 4 [47]).

Twenty-four types of integrin (Reprinted by permission of the Society of Nuclear Medicine from Cai and Chen, 2007, figure 4 [47]).

en facilitant l'invasion et le mouvement à travers les vaisseaux. Les intégrines exprimées sur les cellules endothéliales activées durant l'angiogenèse participent à la migration, à la survie et à la prolifération cellulaire.

Les intégrines $\alpha_v\beta_3$ sont parmi les plus étudiées dans le cancer. Elles sont surexprimées sur les cellules endothéliales activées durant l'angiogenèse, mais pas sur les cellules endothéliales quiescentes. Elles sont aussi surexprimées

directement à la surface de certaines cellules tumorales. L'imagerie de ces intégrines est donc d'interprétation complexe puisqu'elles sont exprimées à la fois dans les néovaisseaux et sur les cellules tumorales elles-mêmes. Une séquence de trois acides aminés : arginine-glycine-acide aspartique, abrégée par les lettres RGD (nomenclature officielle de l'union internationale de chimie pure et appliquée (<http://www.iupac.org>)) a la capacité de se lier aux intégrines $\alpha_v\beta_3$. Cette séquence peptidique se trouve naturellement au sein de différentes protéines de la matrice extracellulaire comme la vitronectine, le collagène ou la fibronectine, par exemple. Les intégrines $\alpha_v\beta_3$ constituent donc une cible de choix pour le développement de traceurs visant à imager la néoangiogenèse tumorale. Elles représentent aussi une cible thérapeutique. Ainsi, le cilengitide, un pentapeptide cyclique contenant la séquence RGD et bloquant l'activation des intégrines $\alpha_v\beta_3$ et $\alpha_v\beta_5$, est actuellement en phase d'essai clinique avancé.

3. L'imagerie isotopique de la néoangiogenèse tumorale

Différentes études précliniques ont démontré la possibilité d'imager la néoangiogenèse en ciblant la voie VEGF/VEGFR et celle des intégrines. Cependant, seuls quelques-uns de ces traceurs ont été utilisés chez l'homme ou sont en phase d'essai clinique. Nous nous intéresserons donc plus particulièrement à ces derniers, le **Tableau 1** présentant une liste exhaustive des traceurs développés au stade préclinique.

3.1. VEGF/VEGFR

Comme décrit précédemment, l'une des cibles principales pour l'imagerie de la néoangiogenèse tumorale est le complexe VEGF/VEGFR. Les deux axes principaux de l'imagerie isotopique de cette voie de signalisation sont :

- le marquage isotopique des molécules de la famille du VEGF permettant une imagerie des récepteurs VEGF ;
- le marquage de molécules ayant pour cible le VEGF lui-même, cette dernière technique ayant l'avantage de pouvoir visualiser de manière non invasive la biodistribution de thérapies antiangiogéniques, ce qui pourrait permettre de prédire l'effet de ces thérapies.

Les isoformes du VEGF-A les plus fréquemment marquées sont les isoformes 121, 165 et 189 qui ont la plus grande affinité avec les VEGFR. Ces dernières ont été marquées par des émetteurs bêta ou gamma et ont montré un ciblage prometteur chez le petit animal. D'autres équipes travaillent sur un nouveau type de VEGF, le single-chain VEGF (scVEGF), présentant dans sa distalité un motif Cys-tag permettant un marquage au ^{99m}Tc , mais aussi avec des émetteurs bêta : ^{64}Cu , ^{68}Ga , ^{18}F [6–9].

Chez l'humain, Li et al. ont étudié l'imagerie des récepteurs au VEGF en utilisant un recombinant humain du VEGF-A marqué à l' ^{131}I , le VEGF₁₆₅, chez neuf patients atteints de carcinome pancréatique [10]. La sensibilité de détection des tumeurs primaires était de 78 % et de 64 % pour l'ensemble des lésions primaires et secondaires. Les données de biodistribution montraient une expression des récepteurs VEGF principalement au niveau de la rate, des poumons et du foie. Les deux patients sans fixation de la tumeur primaire avaient des carcinomes de type indifférencié. La dose effective reportée était de $0,017 \pm 0,002 \text{ mSv/MBq}$. Dans une étude de faisabilité de la même équipe réalisée chez 18 patients (neuf adénocarcinomes pancréatiques, quatre hépatocarcinomes, deux cholangiocarcinomes, un schwannome abdominal, une carcinose péritonéale et une hyperplasie nodulaire focale hépatique), la sensibilité de détection des lésions était toutefois nettement supérieure avec le CT/IRM [11]. Enfin, cette équipe

Tableau 1
Traceurs ciblant la famille des facteurs de croissance de l'endothélium vasculaire (VEGF) ou ses récepteurs.
VEGF/VEGFR radiotracers.

	Cible	Traceur	Isotope	Imagerie	Ligand	Type d'étude	Référence
Cible : Récepteurs au VEGF	VEGFR	VEGF-A ₁₆₅	^{123}I	SPECT		Clinique	[10,12,48]
	VEGFR	VEGF-A ₁₆₅	^{111}In	SPECT	GGGS	Préclinique	[49]
	VEGFR	VEGF-A ₁₂₁	^{125}I	SPECT		Préclinique	[50]
	VEGFR	scVEGF	^{99m}Tc	SPECT	Cys-tag	Préclinique	[6,7]
	VEGFR2	chitosan-DC101	^{99m}Tc	SPECT		Préclinique	[51]
	VEGFR	VEGF	^{99m}Tc	SPECT	HYNIC	Préclinique	[52]
	VEGFR	VEGF-A ₁₈₉	^{188}Re	SPECT	MAG-3	Préclinique	[53]
	VEGFR2	scVEGF	^{64}Cu	PET	PEG-DOTA	Préclinique	[54]
	VEGFR	scVEGF	^{68}Ga	PET	NOTA	Préclinique	[8]
	VEGFR2	VEGF-A ₁₂₁	^{64}Cu	PET	DOTA	Préclinique	[55,56]
	VEGFR	PIGF (RO5323441)	^{89}Zr	PET		Essai Clinique	[57]
	VEGFR2	VEGF _{DEE}	^{64}Cu	PET		Préclinique	[58]
	VEGFR2	scVEGF	^{18}F	PET	FBEM	Préclinique	[9]
Cible : VEGF	VEGFA	bevacizumab	^{111}In	SPECT		Clinique	[14,59]
	VEGFA	VG76e	^{124}I	PET	SHPP	Préclinique	[60]
	VEGFA	HuMV833	^{124}I	PET		Clinique	[11]
	VEGFA	bevacizumab	^{86}Y	PET	DTPA	Préclinique	[61]
	VEGFA	ranibizumab	^{89}Zr	PET		Essai Clinique	[62]
	VEGFA	bevacizumab	^{89}Zr	PET		Essai Clinique	[59]

a rapporté une fixation significative chez deux patients atteints d'ostéosarcome [12]. Nagengast et al. ont quant à eux étudié la faisabilité de l'imagerie scintigraphique du VEGF en utilisant l' ^{111}In -bevacizumab chez neuf patients atteints de mélanome (stade III/IV) en récurrence ganglionnaire [13]. Douze lésions ganglionnaires visualisées en TEP au ^{18}F -FDG et en CT ont aussi été mises en évidence avec ce nouveau traceur, 11 lésions sur 12 présentant par ailleurs une baisse de captation après deux semaines d'administration de bevacizumab à dose thérapeutique. Le mécanisme de fixation reste néanmoins peu clair, Scheer et al. ayant montré, chez 12 patients atteints de métastases hépatiques de cancers colorectaux, qu'il existait une mauvaise corrélation ($r = 0,22$, $p = 0,67$) entre la fixation de ^{111}In -bevacizumab et l'expression de VEGF-A (détectée par Elisa et hybridation in situ) [14]. L'équipe de Jayson et al. a publié les résultats d'une étude clinique de phase I étudiant la biodistribution d'un anticorps marqué à l' ^{124}I – HuMV883 – dirigé contre les isoformes 121 et 165 du VEGF-A montrant une grande hétérogénéité de fixation entre les patients, mais aussi en regard des différentes localisations tumorales chez le même patient [11].

Au vu de ces premiers résultats prometteurs chez l'humain, différents essais cliniques avec pour cible le VEGF ou son récepteur sont en cours (www.clinicaltrials.org). Ces études portent sur des traceurs marqués au Zirconium-89, pour l'imagerie TEP (demi-vie de 3,3 jours ; décroissance : 23 % d'émission bêta ; Emax du bêta : 897keV) [15]. Le ^{89}Zr -bevacizumab a ainsi été développé pour l'imagerie des carcinomes rénaux, cancers du sein ER+ et tumeurs neuro-endocrines, principalement pour évaluer sa valeur en prédiction de la thérapie.

3.2. Les intégrines

Différents peptides ont été développés pour cibler les intégrines. La plupart des ces molécules sont des pentapeptides contenant la séquence RGD et qui présentent une structure cyclique, différentes études ayant prouvé que cette dernière augmentait significativement l'affinité du traceur pour les intégrines. Initialement lipophiles, ces pentapeptides étaient éliminés principalement par le système hépatobiliaire, résultant en une haute concentration dans le foie et les intestins. Par la suite, le recours à des procédés de glycosylation avec du glucose ou du galactose et l'intégration d'un résidu d'acide aminé hydrophile ont permis l'obtention de peptides plus hydrophiles majoritairement excrétés par les reins.

Alors que les premiers peptides cycliques étudiés étaient monomériques, certaines équipes ont développé des peptides dimériques ou tétramériques, cela afin d'accroître leur affinité aux intégrines [16–18]. Dijkgraaf et al. ont ainsi synthétisé, à partir d'un peptide E-c(RGDfK), un peptide dimérique et tétramérique conjugué au DOTA, se traduisant par une augmentation significative de la captation du traceur avec le nombre de monomère conjugué [17].

Un très grand nombre de traceurs des intégrines ont ainsi été développés au stade préclinique, mais peu d'entre eux ont

abouti à une application chez l'humain. Ce sont ces derniers traceurs sur lesquels nous concentrerons notre intérêt.

3.2.1. Imagerie monophotonique

Trois traceurs technétiés contenant le motif RGD ont été étudiés chez l'homme. Dès 1998, Sivolapenko et al. ont étudié la biodistribution d'un décapeptide non cyclique contenant deux motifs RGD, l' αP2 , chez 14 patients atteints de mélanome métastatique [19]. Ils n'ont rapporté aucun effet secondaire ou toxicité. La clairance rénale était rapide avec une phase de rétention suivant une phase d'excrétion. Il n'y avait pas d'accumulation du traceur dans les autres organes. Alors qu'une majorité des lésions métastatiques thoraciques n'ont pas été retrouvées, probablement du fait de la forte activité circulante au niveau du cœur, 75 % des adénopathies axillaires et cervicales et 100 % des lésions hépatiques, cérébrales, osseuses et cutanées ont été identifiées. Le ratio activité tumorale/bruit de fond était généralement faible et le meilleur délai post injection pour l'imagerie se trouvait entre 60 et 120 minutes. Néanmoins, en l'absence de corrélation histopathologique, une éventuelle corrélation entre la fixation de ce traceur et l'expression des intégrines ou de la néoangiogenèse n'a pu être établie.

Trois études rapportent l'utilisation du $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -NC100692 chez l'homme [20–22]. Il s'agit d'un peptide cyclique contenant le motif RGD présentant une forte affinité pour les intégrines $\alpha_v\beta_3$ et $\alpha_v\beta_5$. Dans une série de 20 patients atteints de cancer du sein, Bach-Gansmo et al. ont détecté 19 lésions sur 22. Un essai multicentrique phase II conduit sur 25 patients (dix cancers du sein et 15 cancers pulmonaires) a montré une bonne capacité de détection des lésions métastatiques pulmonaires et cérébrales, mais une faible capacité pour la détection des métastases hépatiques et osseuses. Parmi les dix patients atteints de cancer du sein, huit ont bénéficié d'une mammoscintigraphie permettant de mettre en évidence des lésions de plus petite taille qu'en scintigraphie planaire ou TEMP.

Enfin, Ma et al. ont montré la faisabilité de la scintigraphie avec le $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -3P4-RGD₂, un peptide dimérique [23]. Chez 21 patients présentant un nodule pulmonaire isolé, correspondant à une tumeur bénigne ou maligne exprimant l'intégrine $\alpha_v\beta_3$, l'analyse TEMP visuelle ou semi-quantitative atteignait des valeurs de sensibilité et spécificité, respectivement, de 100 et 67 %.

3.2.2. Imagerie par émission de positons

3.2.2.1. Les traceurs fluorés.

Le traceur TEP fluoré ciblant les intégrines le plus étudié en phase clinique est le ^{18}F -galacto-RGD. La première étude par Beer et al. date de 2005 [24]. Depuis, plusieurs dizaines de patients ont bénéficié de l'injection de ce traceur à travers différentes études [25–32], sans effet secondaire retenu. Les études de biodistribution et de dosimétrie montrent une clairance sanguine rapide avec une excrétion urinaire et une captation importante dans les reins, le foie, la rate et les intestins. La dose effective est proche de celle du ^{18}F -FDG, de 0,017mSv/MBq pour les hommes, 0,020mSv/MBq pour les femmes. Parmi les différentes tumeurs étudiées,

il existait une hétérogénéité de fixation au sein des tumeurs elles-mêmes et entre patients présentant un même type histologique, aucune corrélation n'ayant été établie entre l'intensité de captation et la taille des lésions. Par ailleurs, alors qu'il n'existait pas de corrélation entre la fixation du ^{18}F -FDG et du ^{18}F -galacto-RGD, il existait une bonne corrélation entre l'expression des intégrines $\alpha_v\beta_3$ en immunohistochimie et le taux de fixation en imagerie TEP, confirmant que les mécanismes imagés étaient différents.

Le ^{18}F -AH111585 (ou ^{18}F -fluciclatide), est un peptide monomérique cyclique contenant une séquence RGD. Ce composé présente une affinité plus forte pour les intégrines $\alpha_v\beta_5$ que pour les $\alpha_v\beta_3$. Kenny et al. ont étudié ce traceur chez sept patients atteints de cancer du sein [33]. Toutes les lésions primaires ou secondaires ont pu être détectées, à l'exception des métastases hépatiques, se traduisant par un signal photopénique. Par ailleurs, une étude dosimétrique et de biodistribution chez huit volontaires sains a estimé la dose effective à 0,026 mSv/MBq, le principal organe critique étant la vessie [34]. Un essai clinique est actuellement en cours visant à déterminer la valeur prédictive de ce traceur pour l'évaluation de la réponse à un traitement antiangiogénique de bevacizumab dans le cadre de cancers du rein ou à un traitement d'inhibiteur de tyrosine kinase dans le cadre de tumeurs pulmonaires non à petites cellules.

Deux études ont rapporté l'utilisation du ^{18}F -RGD-K5. Une étude de biodistribution réalisée chez quatre sujets sains a montré une captation augmentée dans la vessie, les reins et le foie, la vessie étant l'organe le plus exposé. La dose effective corps entier était estimée à 0,031 mSv/MBq, mais elle était nettement réduite après miction, tombant à 0,015 mSv/MBq [35]. Une autre étude incluant 12 patients atteints de cancer du sein a comparé le niveau de fixation de ce traceur avec celui du ^{18}F -FDG et a corrélié ces données avec la densité de microvaisseaux sur les pièces anatomopathologiques [36]. Chez ces 12 patients atteints de cancer du sein, 157 lésions étaient positives en ^{18}F -FDG, 122 avec le ^{18}F -RGD-K5. Il n'y avait pas de corrélation entre l'intensité de fixation de ces deux traceurs, ni de corrélation entre la captation du traceur et des paramètres histologiques d'angiogenèse. Cela pourrait être expliqué par le fait que ce traceur n'est pas spécifique des intégrines $\alpha_v\beta_3$. Une étude de phase II évaluant l'utilité de ce traceur pour prédire la réponse au traitement par Avastin[®] vient de se terminer, mais les résultats ne sont pas encore publiés (www.clinicaltrial.gov).

Mittra et al. ont étudié chez cinq volontaires sains la biodistribution et la dosimétrie d'un peptide dimérique, le ^{18}F -FPPRRGD₂ (équivalent au ^{18}F -FP-PEG3-E[c(RGDyK)]₂) [37]. L'excrétion était essentiellement rénale, mais aussi hépatobiliaire. La captation se répartissait principalement au niveau de la vessie, de la rate, des intestins et du foie, mais nettement moins que le fluciclatide. La dose effective corps entier était estimée à 0,0396 mSv/MBq. Enfin, un essai clinique est en cours actuellement pour étudier la biodistribution de deux composants proches : le ^{18}F -FPPRRGD₂ et le ^{18}F -FPRGD₂.

3.2.2.2. Les autres traceurs. Le gallium-68 a plusieurs avantages par rapport au fluor-18 : il peut être élué directement

sur site depuis un générateur de germanium-68 et sa demi-vie brève (68 minutes) en fait un marqueur de choix pour les petits peptides avec une pharmacocinétique rapide. Le ^{68}Ga est de plus susceptible de se lier à différents agents chélateurs comme le NOTA, le DOTA ou le NODAGA, pouvant être lié à des peptides et améliorant leur fixation tumorale par rapport au galactose [38].

Ainsi, Jeong et al. ont synthétisé un pentapeptide cyclique contenant le motif RGD, le c(RGDyK) marqué au ^{68}Ga par l'intermédiaire d'un chélateur NOTA [39]. La biodistribution et la dosimétrie de ce traceur ont ensuite été étudiées chez dix patients, démontrant une dose effective de 0,022 mSv/MBq avec accumulation du traceur au niveau hépatique et excrétion à prédominance urinaire entraînant une dose maximale pour la vessie [40].

Le motif RDG a également été lié au chélateur NODAGA, le traceur ^{68}Ga -NODAGA-RGD pouvant être radiomarké à température ambiante en 15 min en condition GMP et présentant une captation similaire au ^{18}F -Galacto-RGD dans un modèle animal de glioblastome [41] et de mélanome exprimant les intégrines $\alpha_v\beta_3$ [42,43]. Ce traceur permet, en outre, l'obtention d'une imagerie de meilleur contraste que le ^{68}Ga -DOTA-RGD [44]. Outre l'innocuité de son injection et une captation variable selon les types histologiques, une étude récente de biodistribution et dosimétrie sur un modèle murin

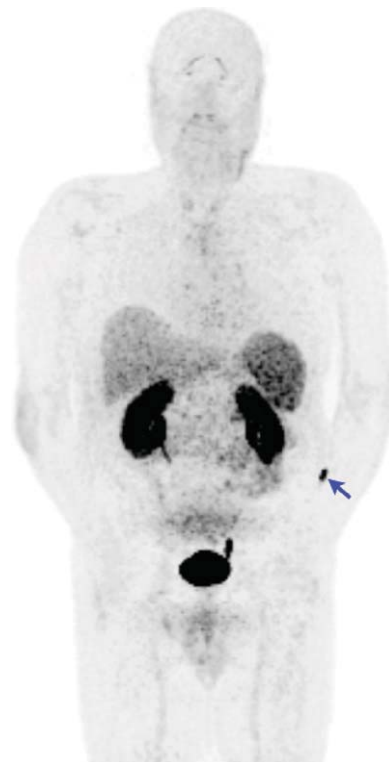


Fig. 3. Première imagerie chez l'homme de l'angiogenèse : reconstruction *maximum intensity projection* (MIP) d'une tomographie par émission de positrons réalisée 70 minutes après injection de ^{68}Ga -NODAGA-RGD chez un patient non oncologique (la flèche bleue montre le point d'injection).

First-in-man imaging of angiogenesis: positron emission tomography maximum intensity projection imaging 70 minutes after injection of ^{68}Ga -NODAGA-RGD in a non oncological patient (blue arrow shows the injection site).

avec greffe tumorale a révélé que le ^{68}Ga -NODAGA-RGD présentait une captation et une élimination rapide par tous les organes d'intérêt, à l'exception du foie et de la rate qui présentaient une rétention du traceur. La dose effective extrapolée à l'humain était de 0,012 mSv/MBq pour l'homme et 0,016 mSv/MBq pour la femme, la vessie recevant la dose la plus importante du fait de la clairance majoritairement urinaire du traceur [45]. Les premières études confirmatoires sont actuellement en cours dans notre centre chez l'humain (Fig. 3).

Enfin, le marquage à l'aide d'autres isotopes à demi-vie longue tel le ^{64}Cu a permis la réalisation d'acquisitions tardives 18 heures après injection de ^{64}Cu -NODAGA-c(RGDfK), et, en augmentant le rapport de captation tumeur/bruit de fond supérieur à 20, d'obtenir des images à fort contraste [41] et d'entrevoir la possibilité de radiothérapies métaboliques avec un marquage au ^{67}Cu .

4. Conclusion

L'imagerie de la néoangiogenèse va de pair avec l'avènement de nouvelles thérapies antiangiogéniques : elle doit pouvoir permettre de mieux sélectionner les patients bons répondeurs et de suivre l'efficacité thérapeutique. D'autres voies d'exploration non invasive par imagerie de la néoangiogenèse que celles que nous avons exposées existent (ciblant par exemple les CD105 ou endoglines, cadhérines, métalloprotéases), et des méthodes d'imagerie non isotopique sont aussi en développement (microbulles ciblantes pour l'échographie, nanoparticules comme plateformes d'imagerie multimodale : IRM, fluorescence, isotopique, etc.). Un des avantages des techniques d'imagerie isotopiques est la potentialité thérapeutique de ces nouveaux traceurs (approche « théranostique »).

Déclaration d'intérêts

Les auteurs déclarent ne pas avoir de conflits d'intérêts en relation avec cet article.

Références

- [1] Europe I. European Innovation Scoreboard (EIS) 2009. Science And Technology 2009.
- [2] Folkman J. Tumor angiogenesis: therapeutic implications. *N Engl J Med* 1971;285:1182–6.
- [3] Kerbel RS. Tumor angiogenesis. *N Engl J Med* 2008;358:2039–49.
- [4] Nussenbaum F, Herman IM. Tumor angiogenesis: insights and innovations. *J Oncol* 2010;2010:1–24.
- [5] Fayette J, Soria J-C, Armand J-P. Le ciblage de l'angiogenèse en oncologie. *Pathol Biol* 2006;54:199–205.
- [6] Levashova Z, Backer M, Backer JM, Blankenberg FG. Direct site-specific labeling of the Cys-tag moiety in scVEGF with technetium 99m. *Bioconjug Chem* 2008;19:1049–54.
- [7] Levashova Z, Backer M, Backer JM, Blankenberg FG. Imaging vascular endothelial growth factor (VEGF) receptors in turpentine-induced sterile thigh abscesses with radiolabeled single-chain VEGF. *J Nucl Med* 2009;50:2058–63.
- [8] Eder M, Krivoshein AV, Backer M, Backer JM, Haberkorn U, Eisenhut M. ScVEGF-PEG-HBED-CC and scVEGF-PEG-NOTA conjugates: comparison of easy-to-label recombinant proteins for ^{68}Ga PET imaging of VEGF receptors in angiogenic vasculature. *Nucl Med Biol* 2010;37:405–12.
- [9] Wang H, Gao H, Guo N, Niu G, Ma Y, Kiesewetter D, et al. Site-specific labeling of scVEGF with Fluorine-18 for positron emission tomography imaging. *Soc Nucl Med Ann Meeting Abstracts* 2012;53:1531.
- [10] Li S, Peck-Radosavljevic M, Kienast O, Preitfellner J, Havlik E, Schima W, et al. Iodine-123-vascular endothelial growth factor-165 (123I-VEGF165). Biodistribution, safety and radiation dosimetry in patients with pancreatic carcinoma. *Q J Nucl Med Mol Imaging* 2004;48:198–206.
- [11] Jayson GC, Zweit J, Jackson A, Mulatero C, Julyan P, Ranson M, et al. Molecular imaging and biological evaluation of humv833 anti-vegfr antibody: implications for trial design of antiangiogenic antibodies. *JNCI J Natl Cancer Inst* 2002;94:1484–93.
- [12] Holzer G, Hamilton G, Angelberger P, Lai D, Ubl P, Dudczak R, et al. Imaging of highly malignant osteosarcoma with iodine-123-vascular endothelial growth factor. *Oncology* 2012;83:45–9.
- [13] Nagengast WB, Hooge MNL, van Straten EME, Kruijff S, Brouwers AH, den Dunnen WFA, et al. VEGF-SPECT with ^{111}In -bevacizumab in stage III/IV melanoma patients. *Eur J Canc* 2011;47:1595–602.
- [14] Scheer MGW, Stollman TH, Boerman OC, Verrijp K, Sweep FCGJ, Leenders WPI, et al. Imaging liver metastases of colorectal cancer patients with radiolabelled bevacizumab: Lack of correlation with VEGF-A expression. *Eur J Canc* 2008;44:1835–40.
- [15] Zhang Y, Hong H, Cai W. PET tracers based on zirconium-89. *Curr Radiopharm* 2011;4:131–9.
- [16] Li ZB, Chen K, Chen X. ^{68}Ga -labeled multimeric RGD peptides for microPET imaging of integrin $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ expression. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2008;35:1100–8.
- [17] Dijkgraaf I, Yim CB, Franssen GM, Schuit RC, Luurtsema G, Liu S, et al. PET imaging of $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ integrin expression in tumours with ^{68}Ga -labelled mono-, di- and tetrameric RGD peptides. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2011;38:128–37.
- [18] Wängler C, Maschauer S, Prante O, Schäfer M, Schirrmacher R, Barntenstein P, et al. Multimerization of cRGD peptides by click chemistry: synthetic strategies, chemical limitations, and influence on biological properties. *Chem Bio Chem* 2010;11:2168–81.
- [19] Sivolapenko GB, Skarlos D, Pectasides D, Stathopoulou E, Milonakis A, Sirmalis G, et al. Imaging of metastatic melanoma utilising a technetium-99m labelled RGD-containing synthetic peptide. *Eur J Nucl Med Molec Imaging* 1998;25:1383–9.
- [20] Bach-Gansmo T, Bogsrud TV, Skretting A. Integrin scintimammography using a dedicated breast imaging, solid-state γ -camera and $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -labelled NC100692. *Clin Physiol Functional Imaging* 2008;28:235–9.
- [21] Bach-Gansmo T, Danielsson R, Saracco A, Wilczek B, Bogsrud TV, Fangherget A, et al. Integrin Receptor Imaging of Breast Cancer: A Proof-of-Concept Study to Evaluate $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -NC100692. *J Nucl Med* 2006;47:1434–9.
- [22] Axelsson R, Bach-Gansmo T, Castell-Conesa J, McParland BJ. An open-label, multicenter, phase 2a study to assess the feasibility of imaging metastases in late-stage cancer patients with the $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ -selective angiogenesis imaging agent $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -NC100692. *Acta Radiologica* 2010;51:40–6.
- [23] Ma Q, Ji B, Jia B, Gao S, Ji T, Wang X, et al. Differential diagnosis of solitary pulmonary nodules using $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -3P4-RGD2 scintigraphy. *Eur J Nucl Med Molec Imaging* 2011;38:2145–52.
- [24] Beer AJ, Haubner R, Goebel M, Luderichs S, Spilker ME, Wester HJ, et al. Biodistribution and pharmacokinetics of the $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ -selective tracer $^{18\text{F}}$ -Galacto-RGD in cancer patients. *J Nucl Med* 2005;46:1333–41.
- [25] Beer AJ, Haubner R, Sarbia M, Goebel M, Luderichs S, Grosu AL, et al. Positron emission tomography using $^{18\text{F}}$ galacto-rgd identifies the level of integrin $\text{Av}\beta\text{3}$ expression in man. *Clin Cancer Res* 2006;12:3942–9.
- [26] Beer AJ, Grosu AL, Carlsen J, Kolk A, Sarbia M, Stangier I, et al. $^{18\text{F}}$ Galacto-RGD positron emission tomography for imaging of $\text{Av}\beta\text{3}$ expression on the neovasculature in patients with squamous cell carcinoma of the head and neck. *Clin Cancer Res* 2007;13:6610–6.
- [27] Beer AJ, Lorenzen S, Metz S, Herrmann K, Watzlowik P, Wester HJ, et al. Comparison of integrin $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ expression and glucose metabolism in primary and metastatic lesions in cancer patients: a PET study using $^{18\text{F}}$ -galacto-RGD and $^{18\text{F}}$ -FDG. *J Nucl Med* 2008;49:22–9.
- [28] Beer AJ, Schwaiger M. PET imaging of $\alpha\text{v}\beta\text{3}$ expression in cancer patients. *Methods Mol Biol* 2011;680:183–200.

- [29] Beer AJ, Haubner R, Wolf I, Goebel M, Luderschmidt S, Niemeyer M, et al. PET-based human dosimetry of 18F-Galacto-RGD, a new radiotracer for imaging $\alpha v \beta 3$ expression. *J Nucl Med* 2006;47:763–9.
- [30] Beer AJ, Niemeyer M, Carlsen J, Sarbia M, Nühlig J, Watzlowik P, et al. Patterns of $\alpha v \beta 3$ expression in primary and metastatic human breast cancer as shown by 18F-Galacto-RGD PET. *J Nucl Med* 2008;49:255–9.
- [31] Haubner R, Weber WA, Beer AJ, Vabulien E, Reim D, Sarbia M, et al. Noninvasive visualization of the activated $\alpha v \beta 3$ integrin in cancer patients by positron emission tomography and [18F]Galacto-RGD. *PLoS Med* 2005;2:244–52.
- [32] Schnell O, Krebs B, Carlsen J, Miederer I, Goetz C, Goldbrunner RH, et al. Imaging of integrin $\alpha v \beta 3$ expression in patients with malignant glioma by [18F] Galacto-RGD positron emission tomography. *Neuro Oncol* 2009; 11:861–70.
- [33] Kenny LM, Coombes RC, Oulie I, Contractor KB, Miller M, Spinks TJ, et al. Phase I Trial of the positron-emitting Arg-Gly-Asp (RGD) peptide radioligand 18F-AH111585 in breast cancer patients. *J Nucl Med* 2008; 49:879–86.
- [34] McParland BJ, Miller MP, Spinks TJ, Kenny LM, Osman S, Khela MK, et al. The biodistribution and radiation dosimetry of the Arg-Gly-Asp peptide 18F-AH111585 in healthy volunteers. *J Nucl Med* 2008;49:1664–7.
- [35] Doss M, Kolb HC, Zhang JJ, Bélanger MJ, Stubbs JB, Stabin MG, et al. Biodistribution and radiation dosimetry of the integrin marker 18F-RGD-K5 determined from whole-body PET/CT in monkeys and humans. *J Nucl Med* 2012;53:787–95.
- [36] Cho HJ, Lee JD, Park JY, Yun M, Kang WJ, Walsh JC, et al. First in human evaluation of a newly developed integrin binding PET tracer, 18F-RGD-K5 in patients with breast cancer: comparison with 18F-FDG uptake pattern and microvessel density. *Soc Nucl Med Ann Meeting Abstracts* 2009;50:1910.
- [37] Mittra ES, Goris ML, Iagaru AH, Kardan A, Burton L, Berganos R, et al. Pilot Pharmacokinetic and dosimetric studies of 18F-FPPRGD2: a PET radiopharmaceutical agent for imaging $\alpha v \beta 3$ integrin levels. *Radiology* 2011;260:182–91.
- [38] Decristoforo C, Hernandez Gonzalez I, Carlsen J, Rupprich M, Huisman M, Virgolini I, et al. 68Ga- and 111In-labelled DOTA-RGD peptides for imaging of $\alpha v \beta 3$ integrin expression. *Eur J Nucl Med Molec Imaging* 2008;35:1507–15.
- [39] Jeong JM, Hong MK, Chang YS, Lee Y-S, Kim YJ, Cheon GJ, et al. Preparation of a promising angiogenesis PET imaging agent: 68Ga-labeled c(RGDyK)-isothiocyanatobenzyl-1,4,7-triazacyclononane-1,4,7-triacetic acid and feasibility studies in mice. *J Nucl Med* 2008;49:830–6.
- [40] Kim JH, Lee JS, Kang KW, Lee H-Y, Han S-W, Kim T-Y, et al. whole-body distribution and radiation dosimetry of 68Ga-NOTA-RGD, a positron emission tomography agent for angiogenesis imaging. *Canc Biother Radiopharm* 2012;27:65–71.
- [41] Dumont RA, Deininger F, Haubner R, Maecke HR, Weber WA, Fani M. Novel 64Cu- and 68Ga-labeled RGD conjugates show improved PET imaging of $\alpha v \beta 3$ integrin expression and facile radiosynthesis. *J Nucl Med* 2011;52:1276–84.
- [42] Pohle K, Bussemer J, Schwaiger M, Wester HJ, Beer A. Imaging of integrin $\{\alpha\}_{\nu}\{\beta\}_3$ expression: a comparative study using [18F]Galacto-RGD and [68Ga]NODAGA-RGD. *Soc Nucl Med Ann Meeting Abstracts* 2011;52:405.
- [43] Pohle K, Notni J, Bussemer J, Kessler H, Schwaiger M, Beer AJ. 68Ga-NODAGA-RGD is a suitable substitute for 18F-Galacto-RGD and can be produced with high specific activity in a cGMP/GRP compliant automated process. *Nuclear Medicine and Biology*, mars 2012.
- [44] Knetsch PA, Petrik M, Griessinger CM, Rangger C, Fani M, Kesenheimer C, et al. [68Ga]NODAGA-RGD for imaging $\alpha v \beta 3$ integrin expression. *Eur J Nucl Med Molecular Imaging* 2011;38:1303–12.
- [45] Buchegger F, Viertl D, Baechler S, Dunet V, Kosinski M, Poitry-Yamate C, et al. 68Ga-NODAGA-RGDyK for $\alpha v \beta 3$ integrin PET imaging. Preclinical investigation and dosimetry. *Nuklearmedizin* 2011;50:225–33.
- [46] Tugues S, Koch S, Gualandi L, Li X, Claesson-Welsh L. Vascular endothelial growth factors and receptors: anti-angiogenic therapy in the treatment of cancer. *Molecul Asp Med* 2011;32:88–111.
- [47] Cai W, Chen X. Multimodality molecular imaging of tumor angiogenesis. *J Nucl Med* 2008;49:113S–28S.
- [48] Li S, Peck-Radosavljevic M, Kienast O, Preitfellner J, Hamilton G, Kurtaran A, et al. Imaging gastrointestinal tumours using vascular endothelial growth factor-165 (VEGF165) receptor scintigraphy. *Ann Oncol* 2003;14:1274–7.
- [49] Chan C, Sandhu J, Guha A, Scollard DA, Wang J, Chen P, et al. A human transferrin-vascular endothelial growth factor (hTf-VEGF) fusion protein containing an integrated binding site for (111)In for imaging tumor angiogenesis. *J Nucl Med* 2005;46:1745–52.
- [50] Yoshimoto M, Kinuya S, Kawashima A, Nishii R, Yokoyama K, Kawai K. Radioiodinated VEGF to image tumor angiogenesis in a LS180 tumor xenograft model. *Nucl Med Biol* 2006;33:963–9.
- [51] Lee CM, Kim EM, Cheong SJ, Kim DW, Lim ST, Sohn MH, et al. Targeted molecular imaging of VEGF receptors overexpressed in ischemic microvasculature using chitosan-DC101 conjugates. *J Biomed Mater Res A* 2010;92:1510–7.
- [52] Blankenberg FG, Backer MV, Levashova Z, Patel V, Backer JM. In vivo tumor angiogenesis imaging with site-specific labeled 99m Tc-HYNIC-VEGF. *Eur J Nucl Med Molec Imaging* 2006;33:841–8.
- [53] Qin Z, Li Q, Liu G, Luo C, Xie G, Zheng L, et al. Imaging targeted at tumor with 188Re-labeled VEGF189 exon 6-encoded peptide and effects of the transfecting truncated KDR gene in tumor-bearing nude mice. *Nucl Med Biol* 2009;36:535–43.
- [54] Backer MV, Levashova Z, Patel V, Jehning BT, Claffey K, Blankenberg FG, et al. Molecular imaging of VEGF receptors in angiogenic vasculature with single-chain VEGF-based probes. *Nature Med* 2007;13: 504–9.
- [55] Chen K, Cai W, Li ZB, Wang H, Chen X. Quantitative PET imaging of VEGF receptor expression. *Molecul Imaging Biol* 2009;11:15–22.
- [56] Cai W, Chen K, Mohamedali KA, Cao Q, Gambhir SS, Rosenblum MG, et al. PET of vascular endothelial growth factor receptor expression. *J Nucl Med* 2006;47:2048–56.
- [57] OudeMunnink T, Tamas K, Lub-de Hooge M, Dierckx R, Pallaud C, Bergstrom M, et al. PIGF-PET with 89Zr-RO5323441: dose escalation study in human tumor xenografts. *Soc Nucl Med Annual Meeting Abstracts* 2011;52:139.
- [58] Wang H, Cai W, Chen K, Li Z-B, Kashefi A, He L, et al. A new PET tracer specific for vascular endothelial growth factor receptor 2. *Eur J Nucl Med Mol Imaging* 2007;34:2001–10.
- [59] Nagengast WB, de Korte MA, Munnink THO, Timmer-Bosscha H, Dunnen WF, den, Hollema H, et al. 89Zr-Bevacizumab PET of early antiangiogenic tumor response to treatment with HSP90 inhibitor NVP-AUY922. *J Nucl Med* 2010;51:761–7.
- [60] Collingridge DR, Carroll VA, Glaser M, Aboagye EO, Osman S, Hutchinson OC, et al. The Development of [124I]Iodinated-VG76e a novel tracer for imaging vascular endothelial growth factor in vivo using positron emission tomography. *Cancer Res* 2002;62:5912–9.
- [61] Nayak TK, Garmestani K, Baidoo KE, Milenic DE, Brechbiel MW. PET imaging of tumor angiogenesis in mice with VEGF-A targeted 86Y-CHX-A'-DTPA-bevacizumab. *Int J Cancer* 2011;128:920–6.
- [62] Nagengast WB, Hooge MNL, Oosting SF, Dunnen WFA, den, Warders F-J, Brouwers AH, et al. VEGF-PET imaging is a noninvasive biomarker showing differential changes in the tumor during sunitinib treatment. *Cancer Res* 2011;71:143–53.